

und Anwendung nach Wilzbach T-markierter Verbindungen, Walter de Gruyter & Co., Berlin (1962). — 11. RYDBERG, J., Acta chem. scand. 12, 399 (1958). — 12. IBSEN, K. H., E. L. COE und R. W. MCKEE, Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) 30, 384 (1958). — 12a. KIESOW, L., Z. Naturforschg. 156, 293 (1960); 166, 32 (1961). — 13. WU, R. und E. RACKER, J. biol. Chemistry 234, 1036 (1959). — 14. KUNZ, W. und W. SCHMIDT, Z. Naturforsch. 12b, 743 (1957). — 15. UMBREIT, W. W., R. H. BURRIS und J. F. STAUFFER, Manometric Techniques, S. 145, 304, Burgess Publishing Co., Minneapolis (1959). — 16. CHANCE, B. und B. HESS, J. biol. Chemistry 234, 2416 (1959); 234, 2421 (1959);

Hess, B. und B. CHANCE, J. biol. Chemistry 236, 239 (1961). — 17. SAUER, L. A., Biochem. biophysic. Res. Commun. 17, 294 (1964). — 17a. URBAHN, H., J. SCHULZ, U. HARTWIG und E. HOFMANN, Biochem. Z. 340, 522 (1964). — 18. HOFMANN, E., S. KÖNIG und I. BEHNE, Naturwissenschaften 49, 40 (1962). — 19. PARK, C. R., D. REINWEIN, M. J. HENDERSON, E. CADENAS und H. E. MORGAN, Amer. J. Med. 25, 674 (1959). — 20. GIBIAN, H., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 291, 6 (1952). — 21. MICHAELIS, L., Biochem. Z. 230, 139 (1931). — 22. BOAS, N. F., J. biol. Chemistry 204, 553 (1953).

Dr. rer. nat. Martin Wenzel
Physiologisch-chemisches Institut
der Freien Universität
1 Berlin 33, Arnimallee 22

Zur Frage der Gefrierdenaturierung von Serumproteinen

Papier- und immunoelektrophoretische Untersuchungen

VON F. SCHEIFFARTH, H. GÖTZ und R. CERNY

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. N. Henning)

(Der Schriftleitung zugegangen am 16. September 1964)

An insgesamt zehn Seren von Gesunden wurden in 251 Einzelanalysen mit Hilfe der Papier- und Agarelektrophorese die Effekte nach verschiedenen Gefriermaßnahmen in der Kühltruhe geprüft. Es konnte nachgewiesen werden, daß nach 12maligem Auftauen und Wiedereinfrieren, deutlicher jedoch erst nach 20maligem Auftauen und Wiedereinfrieren, quantitative Veränderungen der einzelnen Seren auftraten. Die Veränderungen waren allerdings nur mit immunoelektrophoretischer Technik faßbar. Sie bestanden in einer relativen Verminderung von α -Präcipitaten, der β -Siderophilinfraction, der γ -Globuline und insbesondere der γ -Subfraktionen in einzelnen Fällen mit Fehlen der γ_1 -A und auch der γ_1 -M Komponenten. Auch die Albuminfraction war in Einzelfällen vermindert. Papier-elektrophoretisch zeigte sich die Tendenz zu einer Verminderung der β -Globulinfraction, die allerdings nicht statistisch gesichert werden konnte. Oxydase- und alkalische Phosphataseaktivität wurden in allen behandelten Seren noch nachgewiesen.

In der Diskussion wird auf die Instabilität der Globuline — gegenüber Albuminen — i. S. der Gefrierdenaturierung hingewiesen, wobei, unter Berücksichtigung der einschlägigen Literatur, in besonderem Maße die Lipoproteide des Serums betroffen sind. Insgesamt zeigen jedoch die vorliegenden Ergebnisse, daß sich die Serumeiweißkörper bei Gefrierversuchen um -20° in ihrer Konstellation stabil erweisen.

251 analyses by paper- or agar-electrophoresis were performed on the serum from 10 healthy persons, in order to study the effect of freezing. After freezing and thawing 12 times alternately, there were detectable changes, but after 20 times there were quantitative changes in the individual sera. The changes were only detectable by immunoelectrophoresis and consisted of a relative decrease of α -precipitate, the β -siderophilin fraction, the γ -globulins and especially the γ -subfractions, in some cases with loss of the γ_1 -A and γ_1 -M components. In some cases the albumin fraction showed a tendency to decrease but this was not statistically significant. Oxidase and alkaline phosphatase activity were still present in all the treated sera.

The instability of globulins as compared with albumins is discussed in relation to denaturation by freezing, which, according to relevant literature, largely affects the serum lipoproteins. The results show, however, that the pattern of serum proteins remains stable to freezing at -20° .

Eine zuverlässige Haltbarmachung von Serum war von jeher Gegenstand der verschiedensten Versuche. Neben der einfachen Aufbewahrung im Kühlschrank und neben den speziellen Verfahren zur Herstellung einer Trockensubstanz in amorpher oder kristalliner Form hat sich für Eiweißlösungen das *Tiefkühlverfahren* in besonderem Maße bewährt. — Die Gefrierdenaturierung von Proteinen wird im allgemeinen auf Aggregations- und Desaggregationseffekte (1) zurückgeführt, die ihrerseits als eine Folge der Eisbildung und Erhöhung der Ionenkonzentration in der flüssig gebliebenen Rest-

lösung aufzufassen sind. Dabei spielen offenbar druckmechanische Faktoren (2, 3, 4) eine nicht unwesentliche Rolle. Gefriergeschwindigkeit sowie Häufigkeit des Gefrierens und Auftauens können ebenfalls die Gefrierdenaturierung wesentlich mitbestimmen. Sicher spielen aber auch Art und Komplexbildung der Proteinsysteme und deren Hydratation ebenso wie die gewählten Kühltemperaturen eine Rolle.

In vorliegender Arbeit sollte mit Bezug auf die uns zur Verfügung stehende Kühltruhe¹⁾ die Haltbarkeit

¹⁾ „BBC“-Kühltruhe, Typ „OKL 8603 A 13 220VE-N“.

von Seren unter den verschiedensten Bedingungen geprüft werden. Hierbei interessierte, ob unter mehrfachem Auftauen und Wiedereinfrieren einerseits, und ob bei längerem Belassen in gefrorenem Zustand andererseits das Serum eines Gesunden qualitative oder quantitative Veränderungen erfährt. An Untersuchungstechniken kamen dabei papier- und immunoelektrophoretische Methoden zur Anwendung.

Versuche

Untersuchungsgut und Versuchsanordnung

Es wurden insgesamt 10 Seren von Gesunden in 251 Einzelanalysen untersucht. Bei Entnahme des Blutes waren die Spender jeweils nüchtern, die Serumproben somit frei von Nahrungsmittellipiden und außerdem frei von Hämolyse.

Das Blut wurde sofort nach Entnahme zur Abscheidung des Serums 15 Min. bei 3000 U/Min. zentrifugiert. Für die Ausgangswerte wurden die Papierelektrophorese 30–90 Min. nach Entnahme des Blutes, die Agar- und Immunoelektrophoresen 60 bis 120 Min. nach Blutentnahme angesetzt. Die verschiedenen Seren wurden sodann bis auf -20° in einer Kühltruhe eingefroren.

Es wurden verschiedene Testreihen aufgestellt, wobei die Seren mehrmals aufgetaut und wieder eingefroren wurden. In einer ersten Testreihe wurden die Seren innerhalb von 48 Stdn. 5mal eingefroren und unmittelbar nach jedem Auftauen untersucht. In einer zweiten Testreihe wurden die Seren an 5 aufeinanderfolgenden Tagen täglich aufgetaut, untersucht und wieder eingefroren. In einer dritten Testreihe wurden die Seren nach einem Tag, nach einer Woche, nach weiteren zwei Wochen und weiteren 6 Wochen untersucht. In einer vierten Testreihe wurden die Seren innerhalb von drei Tagen nach 4-, 8-, 12- und 20maligem Auftauen untersucht. Schließlich wurden die verschiedenen Seren erstmals nach 11 Monaten wieder aufgetaut und elektrophoretisch analysiert.

Untersuchungsmethoden

Die Seren wurden papier- und agarelektrophoretisch mit verschiedenen Färbemethoden und außerdem mit der Immunoelektrophorese untersucht.

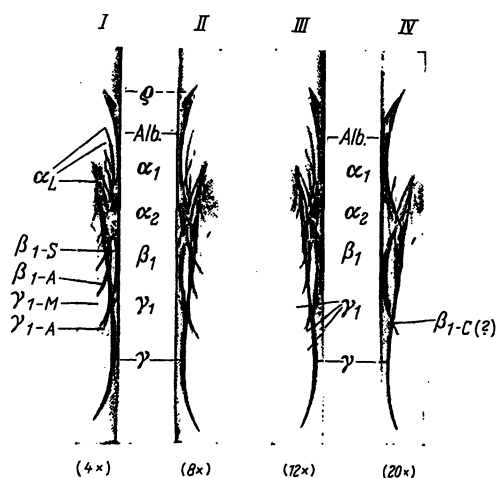


Abb. 1

Immunoelektrophoretische Befunde eines Normalserums nach 4maligem, 8-, 12- sowie 20maligem Einfrieren und Wiederauftauen. α_1 = α -Lipoproteide; β_1 -S = Siderophilin; γ_1 -M = γ -Makroglobulin; γ , γ_1 -A, γ_1 -M = Immunoglobuline.

Man erkennt in der Abb. 1/III eine schwächere Darstellung einzelner Subfraktionen im Bereich der α - und der γ_1 -Globuline; in Abb. 1/IV fehlen Eiweißsysteme im α_1 -, α_2 -, β_1 - sowie insbesondere im γ_1 -Globulin-Bereich, während die immunoelektrophoretischen Befunde unter 1/I und 1/II praktisch keine Abweichungen gegenüber den gewohnten Resultaten un behandelter Seren aufweisen

Die *Papierelektrophorese* wurde nach den Angaben von GRASSMANN und HANNIG (5, 6, 7) vorgenommen. Zur Darstellung der Proteine wurde Amidoschwarz 10 B, zur Anfärbung der Glykoproteidkomplexe Perjodsäure und Schiff'sches Reagens und zur Sichtbarmachung von Serumlipiden Sudanschwärz-B angewandt.

Die einfache *Agarelektrophorese* wurde in klassischer Weise nach den Angaben von GRABAR und WILLIAMS (8, 9, 10) vorgenommen.

Die Darstellung der *alkalischen Phosphatase* erfolgte nach eigenen Erfahrungen (11, 12), die der *Oxydaseaktivität* (an Coeruloplasmin gebunden) nach URIEL (13, 14).

Die *Immunoelektrophorese* wurde, wie die Agarelektrophorese, nach der Vorschrift von GRABAR und Mitarbeitern (s. o.) mit nur geringfügiger Abwandlung in Angleichung an die eigene Elektrophoresevorrichtung vollzogen.

Ergebnisse

Die *papierelektrophoretisch* ermittelten Eiweißwerte, ausgedrückt in relativen Prozentsätzen, zeigten in keiner Versuchsserie nennenswerte Abweichungen vom Normalen. Am ehesten ließ sich im Bereich der β -Globulinfraktion die Tendenz zu einer Verminderung erkennen. Bei statistischer Beurteilung des Verhaltens der β -Globuline lagen jedoch die Endwerte im Vergleich zu den Ausgangswerten immer noch im Bereich der Streubreite; der Rückgang war somit nicht signifikant. Auch die Gesamteiweißwerte der verschieden behandelten Seren ließen keine Abweichungen von den physiologischen Mittelwerten erkennen, insbesondere konnte dies in der Versuchsserie 4 festgestellt werden. Bei Beurteilung der Kohlenhydrat- und Lipoidfärbungen konnten ebenfalls keine Verschiebungen in der Relation der entsprechenden Proteide aufgezeigt werden.

Immunoelektrophoretisch erwiesen sich die Ergebnisse der Gruppen 1, 2 und 3 praktisch unauffällig, d. h. das Liniensystem der verschiedenen Kontrolluntersuchungen zeigte gegenüber den Ausgangsbefunden in ihrer Konstellation keine Abweichungen. Insbesondere konnten bis zu 4-maligem Auftauen auch im Bereich der Subfraktionen des β/γ -Globulinsystems keine Defekte aufgezeigt werden. Desgleichen erlitten die untersuchten Seren bei Auftauen nach einem Zeitintervall von fast 1 Jahr (Gruppe 5) keine qualitativen Veränderungen. Dagegen zeigten aus der Gruppe 4 die Serumkontrollen nach 12 maligem und insbesondere nach 20 maligem Auftauen eine Verminderung des Praecipitates für die Siderophilinfraktion der β_1 -B Fraktion, sowie eine Verminderung, in einzelnen Fällen sogar ein Fehlen der β_2 -A (γ_1 -A)- und β_2 -M (γ_1 -M)- Subfraktionen. Auch die γ -Globulinlinie erwies sich zuweilen als geringer praecipitiert gegenüber dem Ausgangswert. In 2 Fällen waren schließlich im Bereich der α -Globuline Praecipitatdefekte augenscheinlich. Eine sichere Identifizierung dieser fehlenden α -Eiweißsysteme gelang allein aus ihrer Position nicht; es ist jedoch sicher, daß sich unter ihnen das α_2 -Makroglobulin sowie die Gruppe der lipoidanfärbbaren Praecipitate befand. Orientierende Untersuchungen über die Fermentaktivität sämtlicher untersuchter Seren, und zwar der Oxydaseaktivität sowie der alkalischen Phosphatase, haben gezeigt, daß diese Fermente auch nach mehr-

fachem Auftauen noch einwandfrei nachweisbar waren. Quantitative Bestimmungen wurden allerdings nicht vorgenommen.

Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen auf Grund papier-elektrophoretischer Analysen in den verschiedenen Testreihen keine signifikanten Abweichungen in der Relation der Serumeiweißkörper. Unter Berücksichtigung der ebenfalls praktisch unveränderten Gesamteiweißwerte darf das Untersuchungsergebnis im ganzen auch auf die absoluten Prozente übertragen werden.

Eine relative Labilität zeigte in den Versuchsreihen mit mehrmaligem Auftauen die β -Globulinfraction dergestalt, daß sie zu einer Abnahme tendierte, auch wenn diese statistisch nicht zu sichern war. Auch im Bereich der Albuminfraction waren bei ein und demselben Serum gelegentlich Verminderungen bis zu 8 relativen Prozenten festzustellen, jedoch fielen diese Einzelwerte bei statistischer Berechnung ebenfalls noch in den physiologischen Streubereich. — Der hier beobachteten relativen Labilität der β -Globulinfraction kommt möglicherweise trotz der ungenügenden statistischen Sicherung insofern eine Bedeutung zu, als die β -Globuline auch unter anderen Bedingungen, etwa bei längerem Stehen bei Zimmertemperatur, abnehmen, wie dies MOORE und Mitarbeiter (15) sowie WATERSTRADT (16) feststellen konnten. Für die Kälteversuche ist weiterhin zu berücksichtigen, daß Globuline von einer Gefrierdenaturierung meist stärker betroffen sind als Albumine (17, 18) und daß durch die Erhöhung der Ionenkonzentration durch Gefrieren in bestimmten Konzentrationsbereichen speziell die Lipoproteidstruktur — die bekanntlich vornehmlich an die β -Globuline des Serums gebunden ist — aufgelöst werden kann (20, 21, 19).

Die Beobachtung, daß die anfärbbaren Glykoproteidkomplexe der hier behandelten Seren praktisch unverändert blieben, spricht für deren Stabilität. Etwas überraschend in diesem Zusammenhang erscheint die Beobachtung, daß bei Lipoproteidfärbung vor und nach Behandlung keine Änderungen faßbar waren. Dies schließt allerdings nicht aus, daß die einzelnen Serumlipide auch in ihrer quantitativen und qualitativen Zusammensetzung konstant geblieben sind. Hinzu kommt, daß die papier-elektrophoretische und durch Lipoproteidfärbung gegebene Darstellung von Serumkomponenten für Untersuchungen, bei welchen nur geringe Verschiebungen in der relativen Konzentration von Lipo-

proteiden erfolgt sind, lediglich orientierenden Wert besitzt.

Die immunoelektrophoretischen Ergebnisse sprechen insgesamt dafür, daß selbst mit dieser differenzierten Untersuchungstechnik in den meisten Testreihen keine nennenswerten quantitativen oder gar qualitativen Veränderungen an den Seren auftraten. Lediglich bei häufigem Wiederauftauen eingefrorener Seren ließen sich Phänomene nachweisen, die auf eine Verminderung oder auf das Fehlen von Fraktionen des α -, β - und γ -Globulinbereiches hinwiesen. Insofern stellen die immunoelektrophoretischen Ergebnisse eine wesentliche Ergänzung zu den papier-elektrophoretischen Befunden dar. Sie bekräftigen die tatsächlich beobachtete Verminderung der β -Globuline und sie beweisen darüber hinaus, daß mehrfach aufgetaute Seren für immunologische und biologische Studien *nicht* mehr in vollem Umfange geeignet sind, da gerade die Immunfraktionen des β - und γ -Bereiches unter den angegebenen physikalischen Maßnahmen Veränderungen erfahren, die zu Fehlinterpretationen Anlaß geben können. Die Frage, ob vor allem die Lipide des Serums unter den Gefrierversuchen leiden, ist durch die immunoelektrophoretischen Resultate erschwert zu klären, da gerade die Lipoproteide im Agar eine Sonderstellung einnehmen und infolgedessen mit papier-elektrophoretischen Befunden auch nicht vergleichbar sind. Im Agar finden sich die Lipoproteide vornehmlich im Bereich der α -Globuline und in geringerer Konzentration auch im Albumin- (schnellwandernde α_1 -Globuline) sowie Präalbuminbereich. Wahrscheinlich entspricht die beobachtete Verminderung von Praecipitationslinien im α -Bereich solchen Lipoproteidkomplexen.

Schließlich steht die Beobachtung der Erhaltung der Fermentaktivitäten von Oxydase und alkalischer Phosphatase in Übereinstimmung mit Untersuchungsergebnissen der einschlägigen Literatur (18, 22), wonach auch während der Gefrierlagerung die katalytische Aktivität vieler Enzyme wirksam ist. Dabei variieren die Angaben über das biologische Verhalten; teils wird es als stärker aktiv (23), teils als weniger aktiv (24, 25) angegeben. Die fettsplattendenden Fermente scheinen hier eine Sonderstellung zu haben, da sie auch bei Gefriertemperaturen bis -30° noch deutlich wirksam sind (26, 27, 28, 29). Dies erklärt die Instabilität der Serumlipide im Rahmen von Gefriermaßnahmen. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen jedoch, daß bei Temperaturen von -20° die Serumeiweißkörper dennoch eine große Haltbarkeit aufweisen.

Literatur

1. NORD, F. F. und M. BIER, Kolloidchem. Grundlagen d. Lebensmittelfrischhaltung. In Hb. d. Kältetechnik Bd. 9, S. 84, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1952). — 2. IVANOV, J. J., E. A. PARSHINA und N. J. MIROWICH, Biochimija (Moskau) 24, 248 (1959). — 3. LEICHTER, H., Development and advance in cryolyses. Proc. Eighth Int. Congr. Refrig. 336 London (1951). — 4. PUTNAM, F. W., Proteindenaturation. In the proteins. Hrsg. Neurath, H. and K. Bailey, Bd. I, Teil B, 807 New York (1953). —

5. GRASSMANN, W. und K. HANNIG, a) Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 292, 32 (1953), b) Klin. Wschr. 32, 838 (1954). — 6. GRASSMANN, W., K. HANNIG und M. KNEDEL, Dtsch. med. Wschr. 76, 333 (1951). — 7. SCHEIFFARTH, F., G. BERG und H. GÖTZ, Papier-elektrophorese in Klinik und Praxis, Urban & Schwarzenberg, München-Berlin (1962). — 8. GRABAR, P., Bull. Soc. Chim. biol. 65, 36 (1954). — 9. GRABAR, P. und C. A. WILLIAMS, Biochim. biophys. Acta 10: 193 (1953). — 10. WILLIAMS, C. A.

- und P. GRABAR, J. Immunol. 74, 158 (1955). — 11. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ, H. WARNATZ und K. KOCH, im Druck. — 12. SCHEIFFARTH, F., H. WARNATZ und H. GÖTZ, Med. Welt 49, 2216 (1961). — 13. URIEL, J., Bull. Soc. Chim. biol. 105, Suppl. I, 39 (1957). — 14. URIEL, J., H. GÖTZ und P. GRABAR, Schweiz. med. Wschr. 87, 431 (1957). — 15. MOORE, H. D., L. LEVIN und G. K. SMELSER, J. biol. Chemistry 157, 723 (1945). — 16. WATERSTRADT, K., Ärztl. Forsch. 1, 181 (1952). — 17. LOVE, R. M., J. Sci. Food Agric. 9, 257 (1958). — 18. PARTMANN, W., Probleme d. Ernährung durch Gefrierkost; Wissenschaftl. Veröffentl. d. Dtsch. Gesellschaft für Ernährung, 12, 12, Dr. D. Steinkopf Verlag, Darmstadt (1964). — 19. MORAN, T., Proc. Roy. Soc. 98 B, 436 (1925). — 20. LEA, G. H., J. Sci. Food Agric. 8, 1 (1957). — 21. LEA, G. H. und J. C. HAWKE, Biochem. J. 52, 105 (1952). — 22. KÜHNAU, I., Probleme d. Ernährung durch Gefrierkost; Wissenschaftl. Veröffentl. d. Dtsch. Gesellschaft für Ernährung, 12, 9, Dr. D. Steinkopf Verlag Darmstadt (1964). — 23. MONZINI, A., La tachipessi applicata alla conservazione delle carni. Nota II. Influenza sulle attività proteolitiche della catepsine. Estratto dagli Annali della sperimentazione. Agraria (Nuova serie) 6 S. (Roma 1953). — 24. LYNEN, F. und H. W. KALB, Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A II 60, 471 (1955). — 25. PRIVITERA, C. A., D. GREIFF, D. R. STRENGTH, M. ANGLIN und H. PINKERTON, J. biol. Chemistry 23, 524 (1958). — 26. ALFORD, J. A. und D. A. PIERCE, J. Food Sci. 26, 518 (1961). — 27. BALLS, A. K. und J. W. TUCKER, Ind. Engng. Chem. 30, 415 (1938). — 28. KIERMEIER, F., Biochem. Z. 318, 275 (1947). — 29. SIZER, J. W. und E. S. JOSEPHSON, Food Res. 7, 201 (1942).

Professor Dr. med. F. Scheiffarth
Med. Klinik der Universität
852 Erlangen
Krankenhausstr. 12

Dünnschichtchromatographische Trennung konjugierter Serumgallensäuren

Von B. FROSCH und H. WAGENER

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Heidelberg — Rudolf-Krebs-Klinik (Direktor: Prof. Dr. G. Schettler)

(Der Schriftleitung zugegangen am 26. August 1964)

Es wird eine Methode zur dünn-schichtchromatographischen Trennung der konjugierten Serumgallensäuren beschrieben. Nach Fällung der Serumeiweißbestandteile mit heißem absolutem Alkohol können Serumlipide entweder dünn-schichtchromatographisch-präparativ oder durch Extraktion abgetrennt werden.

A method is described for the separation of conjugated serum bile acids by thin layer chromatography. After precipitation of serum proteins with hot, absolute alcohol, serum lipids can be separated either by preparative thin layer chromatography or by extraction.

Über den Gallensäuregehalt des Duodenalexkretes bzw. des Gallensaftes konnte durch Anwendung der papierchromatographischen Trenntechnik mit quantitativen Bestimmungsverfahren eine gewisse Klarheit geschaffen werden. Besonders das von SJÖVALL ermittelte Verfahren gelangte zu breiterer Anwendung. Damit lassen sich die freien Gallensäuren, die Glycinkonjugate und die Taurocholsäure von den beiden taurinkonjugierten Dihydroxycholsäuren (Taurocheno- und Taurodesoxycholsäure) trennen. Doch ist dieses Verfahren durch die Notwendigkeit, in mehreren Fließmitteln auf- und absteigend zu chromatographieren, umständlich. — Einfacher gelingt eine Trennung der Gallensäuren mit Hilfe der *Dünnschichtchromatographie*. Hierzu wurden Fließmittelsysteme von GÄNSHIRT und Mitarbeitern, ENEROTH, HOFMANN, HAMILTON, FROSCH und WAGENER angegeben. Allerdings können dünn-schichtchromatographisch bisher nur die freien Gallensäuren vollständig getrennt werden. Bei den konjugierten Gallensäuren sind die für die Dihydroxycholsäuren erzielten R_f -Wertunterschiede zu gering.

Demgegenüber wurden chromatographische Untersuchungen der Serumgallensäuren bisher selten durchgeführt. RUDMANN und KENDALL geben ein säulenchromatographisches Verfahren an, CAREY trennt freie Serumgallensäuren papierchromatographisch nach SJÖVALL. Ebenfalls papierchromatographisch können freie

Serumgallensäuren als Methylester nach OSBORN und Mitarbeitern getrennt werden. Schließlich haben SJÖVALL und Mitarbeiter die gaschromatographische Trennung freier Gallensäuren nach Reinigung des Serums an Ionenaustauschersäulen durchgeführt. Über die Trennung freier Serumgallensäuren durch Dünnschichtchromatographie mit nachfolgender quantitativer Bestimmung wurde von FROSCH berichtet.

Das im folgenden beschriebene Verfahren, die konjugierten Serumgallensäuren dünn-schichtchromatographisch zu trennen, hat die Abtrennung der Serumeiweißkörper und einiger Lipide zur Voraussetzung. Die Trennung von Lipiden und Gallensäuren kann dabei dünn-schichtchromatographisch-präparativ oder durch Extraktion erreicht werden.

Methode

Reagenzien

Kieselgel „G“ zur Dünnschichtchromatographie; Merck Nr. 7731
n-Butanol; Merck Nr. 988
Eisessig p. a.; Merck Nr. 60
Petroläther Sdp. 40–60°; Merck Nr. 909
Diäthyläther; Merck Nr. 921
Äthanol abs.; Merck Nr. 972
Heptan; Merck Nr. 4365